

소아 신증후군 환자에서 Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 유전자 다형성

경희대학교 의과대학 동서신장병연구소*, 경희대학교 의과대학 소아과교실†

김영민† · 홍현기† · 김성도*·† · 조병수*·†

= Abstract =

Plasminogen Activator Inhibitor Type 1 Gene Polymorphism in Patients with Minimal Change Nephrotic Syndrome

Young-Min Kim, M.D.†, Hyun-Kee Hong, M.D.†
Sung-Do Kim, M.D.*† and Byoung-Soo Cho, M.D.*†

East-West Kidney Disease Research Institute*, School of Medicine,
Department of Pediatrics †, College of Medicine, Kyung-Hee University, Seoul, Korea

Purpose : Hypercoagulability is present in patients with nephrotic syndrome. Plasminogen activator inhibitor type 1(PAI-1) is a major inhibitor of plasminogen activators. PAI-1 inactivates both tissue plasminogen activator(tPA) and urokinase plasminogen activator(uPA) by rapid formation of inactive 1:1 stoichiometric complexes. Recently some studies showed that the enhanced PAI-1 expression may be involved in the intraglomerular fibrinogen/fibrin-related antigen deposition seen in nephrotic syndrome.

Methods : PAI-1 gene promoter -844(G/A) polymorphism was evaluated in 146 children with minimal change nephrotic syndrome(MCNS) and 230 control subjects. The patients with MCNS were subdivided into 85 infrequent-relapser(IR) group and 61 frequent relapser(FR) group. PCR of PAI-1 gene promoter region including -844(G/A) and RFLP using the restriction enzyme *XhoI* were performed for each DNA samples extracted from the groups.

Results : The distribution of PAI-1 genotype in the control group was G/G 81(32.5%), A/A 42(16.9%), and G/A 126(50.6%). The distribution of PAI-1 genotypes in the IR group of MCNS was G/G 29(34.1%), A/A 15(17.7%), and G/A 41(48.2%). The distribution of PAI-1 genotype in the FR group of MCNS was G/G 17(27.9%), A/A 18(29.5%), and G/A 26(42.6%). There was a significantly increased frequency of A/A genotype($P=0.0251$) in the FR group of MCNS.

Conclusion : Our results indicate that the PAI-1 gene promoter A/A genotype may be associated with the FR in MCNS. (*J Korean Soc Pediatr Nephrol* 2004;8:26-32)

Key Words : Plasminogen activator inhibitor type 1, Polymorphism, Nephrotic Syndrome

서 론

접수 : 2004년 3월 27일, 승인 : 2004년 4월 20일
책임저자 : 조병수, 서울시 동대문구 회기동 1번지
경희의료원 소아과
Tel : 02)958-9777 Fax : 02)958-9778
E-mail : bscho@dreamwiz.com

소아 신증후군은 심한 단백뇨, 저알부민혈증, 고지혈증, 그리고 전신 부종을 특징으로 하는 임상증후군으로 이를 앓고 있는 환자에서 동맥과

정맥 모두에서 혈전증이 발생할 수 있으며, 이는 섬유소원의 증가, 섬유소 용해를 방해하는 물질의 증가, 혈장 antithrombin III의 저하 그리고 혈소판 응집성의 증가 등이 그 원인으로 여겨지고 있다[1-4]. 특히 섬유소용해의 감소는 주로 tissue-type의 plasminogen activator(t-PA)들과 urokinase-type의 plasminogen activator(u-PA)들을 억제하는 plasminogen activator inhibitor type 1(PAI-1)의 증가에 기인하며[5] 신증후군에서 이러한 과응고성 경향을 관찰할 수 있다. 최근 몇몇 연구에 의하면 신증후군 뿐만 아니라 혈전증을 일으키는 병인으로, 증가된 PAI-1과 사구체내의 섬유소원/섬유소 관련된 항체의 침착이 연관되어 있음을 시사하였다[6, 7]. 그래서 저자는 PAI-1 유전자 다형성 중 A-844 G(A/G) 유전자 다형성의 빈도 및 유전형을 대조군 및 소아의 신증후군을 비교하였고 신증후군을 다시 frequent relapser(FR)와 infrequent relapser(IR)로 나누어 비교 분석하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2001년 10월부터 2003년 1월까지 경희대학교 부속병원 동서신장병연구소에 방문한 3세에서 18세 사이의 신증후군 환자(평균 나이 6.7 ± 3.2 세)로 경희대학교 부속병원 동서신장병연구소에서 스테로이드 치료를 받고 반응을 보였던 환자 146명을 대상으로 하였다. 이 환자들은 International Study of Kidney Disease in Children (ISKDC)의 진단기준에 따라[8], 처음 치료관해 후 6개월 이내에 2번 이상의 재발이 있거나 12개월 이내에 3번 이상의 재발이 있었던 61명은 frequent relapser(FR)로 그렇지 않은 85명은 infrequent relapser(IR) 다시 분류하였고 스테로이드 저항성 신증후군의 경우는 신생검상 결국에는 초점성 분절성 사구체 경화증, 미만성 증식성 신염, 막증식성 사구체신염, 막성신염 등으로 판

명되어 대상에서 제외하였다. 대조군은 경희대학교 부속병원에 방문한 30세 이상의 건강한 성인으로 신증후군이나 기타 신질환에 이환되지 않은 249명을 대조군으로 구성하였다.

2. 방법

DNA는 genomic DNA purification kit(Nucleospin Blood L. Macherey-Nagel, Germany)을 사용하여 정맥혈에서 추출하였고 PAI-1 promoter gene의 A-844 G에 대한 분석은 Henry 등이 사용한 중합효소 연쇄반응[9] 후 제한효소 절편길이다형현상(Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism; PCR-RFLP)을 이용하여 유전자형을 검사 분석하였다.

간단히 그 과정을 살펴보면 신증후군 환자와 대조군의 genomic DNA를 함유한 각각의 샘플은 94°C에서 2분 동안 변성 후 94°C에서 30초 동안 35회 증폭시키고 62°C에서 30초, 72°C에서 45초 동안 각각 35회 증폭시키고 마지막으로 72°C에서 5분 동안 서서히 35회 증폭시켰다. 이때 사용된 시발체는 5'-CAGGCTCCCCTGATTCTAC-3'과 5'-GAGGGCTCTCTTGTGTCAAC-3'이 사용되었고 증폭된 PCR 생성물들은 *Xho* I(Takara) 제한효소를 이용하여 37°C에서 자르면 A-844G G 대립형질 유전자로부터 증폭된 PCR 생성물은 364 bp와 146 bp로 나뉘고 A-844G A 대립형질 유전자는 나뉘어지지 않는다. 이를 1.5% agarous gel에서 전기영동 후 ethidium bromide로 착색하여 자외선 촬영하였다(Fig. 1).

3. 통계

유전자형과 대립형질 빈도에 대한 통계분석은 GraphPad PRISM 통계 패키지(version 2.00, Graphpad software incorporated)를 이용하여 chi-square test를 하였다. *P*-value 0.05 미만을 통계적으로 유의한 것으로 보았고 비교위험도를

평가하기 위해 95%의 신뢰구간과 교차비(Odds ratio)를 구하였다.

결 과

1. 신증후군과 대조군의 PAI-1 promoter gene A-844 G 다형성 유전형의 분포

PAI-1 promoter gene의 A-844 G 다형성 유전형의 분포는 총 249명의 대조군에서 G/G 형이 81명으로 32.5%, A/A 형이 42명으로 16.9%, G/A 형은 126명으로 50.6%을 차지하였고 신증후군 환자는 총 146명 중 유전형 분포는 G/G 형이 46명으로 31.5%, AA형이 33명으로 22.6%, AG형이 67명으로 45.9%의 분포를 보였고 대조군과 신증후군 환자 사이에는 통계학적으로 유의한 관계가 없었다($P>0.05$). 그래서 146명의 신증후군 환자를 다시 IR 그룹 85명과 FR 그룹 61명으로 각각 나뉘었으며 총 85명의 IR 그룹 환자

의 유전형은 G/G 29(34.1%), A/A 15(17.7%), G/A 41(48.2%)이었으며 총 61명의 FR 그룹 환자의 유전형은 G/G 17(27.9%), A/A 18(29.5%), G/A 26(42.6%)으로 나타났다.

통계처리한 결과 PAI-1 gene의 A-844G의 다형성 중 A/A 유전형이 신증후군 환자 중 단지 FR군에서만 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 증가하였고(16.9% vs 29.5%, $OR=2.06$, $P=0.0251$), 반면 A/G 유전형($OR=0.73$, $P=0.2639$)이나 G/G 유전형($OR=0.80$, $P=0.4828$)은 통계학적인 의의가 없었으며, IR군에서는 대조군에 비하여 A/A($OR=1.06$, $P=0.8690$), A/G($OR=0.91$, $P=0.7063$), G/G($OR=1.07$, $P=0.7880$)으로 모두 통계학적으로 유의하지 않았다 (Table 1).

2. 신증후군과 대조군의 PAI-1 promoter gene A/G 대립유전자 빈도

A/G 대립 유전자 빈도상 대조군에서는 A 대립 유전자 빈도가 210개로 42.2%을 차지하였고 G 대립유전자 빈도는 288개로 57.8%로서 G 대립유전자가 A 대립유전자 보다 더 빈도가 높았고 IR 그룹에서도 A 대립유전자 빈도가 71개로 41.8%, G 대립유전자 빈도가 99개로 58.2%로서 대조군과 별다른 차이가 없었으나 FR 그룹에서는 A 대립유전자 빈도가 62개로 50.8%, G 대립유전자 빈도가 60개로 49.2%를 차지하고 있으며 이는 대조군이나 IR 그룹과도 비교했을 경우 A 대립유전자가 G 대립유전자보다 더 높은

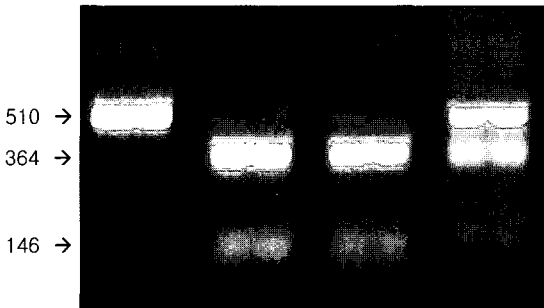


Fig. 1. A-844G amplified fragments digested with Xho I: genotype A/A(lanes 1), genotype G/G(lanes 2 and 3), and genotype A/G(lanes 4).

Table 1. The Distribution of PAI-1 Genotypes in Nephrotic Syndrome Patients and Control Group

	Control (n=249) n(%)	NS(n=146)					
		IR*(n=85)			FR†(n=61)		
		n(%)	OR‡(95%CI§)	P value	n(%)	OR(95%CI)	P value
A/G genotypes							
AA	42(16.9)	15(17.7)	1.06(0.55-2.02)	0.8690	18(29.5)	2.06(1.09-3.92)	0.0251
AG	126(50.6)	41(48.2)	0.91(0.56-1.49)	0.7063	26(42.6)	0.73(0.41-1.28)	0.2639
GG	81(32.5)	29(34.1)	1.07(0.64-1.81)	0.7880	17(27.9)	0.80(0.43-1.49)	0.4828

*IR : infrequent relapsers, †FR : frequent relapsers, ‡OR : Odds Ratio, §CI : Confidence interval

Table 2. The Distribution of A/G Alleles in Nephrotic Syndrome Patients and Control Group

A/G alleles	Control(n=249) n(%)	NS(n=146)					
		IR*(n=85)			FR†(n=61)		
		n(%)	OR‡(95%CI§)	P value	n(%)	OR(95%CI)	P value
A	210(42.2)	71(41.8)	0.98(0.69-1.40)	0.9266	62(50.8)	1.42(0.95-2.11)	0.0844
G	288(57.8)	99(58.2)	1.02(0.71-1.45)	0.9266	60(49.2)	0.71(0.47-1.05)	0.0892

*IR : infrequent relapsers, †FR : frequent relapsers, ‡OR : Odds Ratio, §CI : Confidence interval

빈도를 보여 주고 있으나 A 대립유전자 빈도는 P value 0.0844와 OR=1.42으로 95% 신뢰구간상 0.95에서 2.11 나타냈고 G 대립유전자 빈도도 P value 0.0892와 OR=0.71로서 95% 신뢰구간상 0.47-1.05을 나타냄으로써 이와 같이 통계상 유의하지는 않았다(Table 2).

고 찰

신증후군 환자에서 과응고성 경향이 나타난다. PAI-1은 50-kD의 당단백으로 serine protease inhibitor superfamily에 속하며[10-12], tissue plasminogen activator(tPA)와 urokinase plasminogen activator(uPA)과 1:1로 빠르게 결합하여 섬유소 용해능력을 감소시키는 강력한 물질이다[5]. 이렇게 섬유소 용해능력의 감소는 혈전과 관련된 질환의 발생에 주요한 원인이 된다. 즉 허혈성 뇌질환이나 관상동맥 질환을 앓고 있는 환자에서 혈장 PAI-1의 증가를 확인할 수 있으며 증가된 PAI-1은 신장 손상을 일으킬 수 있고 이로 인해 실험적으로 반월상 사구체신염[13, 14] 뿐만 아니라 이식신에서도 만성적인 손상을 줄 수 있으며[15, 16] 염증성 사구체 질환도 야기시킬 수 있다[17-20].

인간의 PAI-1 유전자는 현재까지 8개의 유전자 다형성이 발견되었고 이 중 촉진자 부위의 PAI-1 유전자 다형성에는 A-844 G(A/G) 부위와 -675 4G/5G(4G/5G) 부위 등 두 가지 종류의 다형성이 있는데, 4G/5G 다형성은 4G 다형성이

나 아니면 5G 다형성이냐에 따라 뇌허혈성 질환 [21-24] 위험성이 증가할 수도 있고 감소할 수도 있으며 심근경색증[25-27] 및 심부정맥혈전과도 [28] 연관성 있음이 보고되었고 반면 Morange 등에 의해 A/G 다형성이 혈장에서 PAI-1의 농도를 올릴 수 있고 V Leiden factor을 가진 실험군에서 심부정맥의 혈전이 증가한다고 보고하였다[29].

1996년 Grubic 등은 PAI-1 유전자의 촉진자 844부위에 Guanine이 Adenine으로 바뀐 단순 염기 치환 다형성을 발표하였고 이 부위가 4G/5G 다형성과 같이 PAI-1 유전자를 expression 하는 중요한 기능을 한다고 제안하였다[28]. 그리고 844 부위의 A/G 대립유전자의 분포는 Caucasian 지역의 대조군과 본 연구의 대조군과는 차이가 있었다. 즉 Caucasian 그룹에서는 A 대립유전자가 G 대립유전자보다 더 많은 것으로 보고하였으나[28-30] 본 연구에서는 오히려 G 대립유전자가 A 대립유전자보다 많음을 알 수 있었다. 이는 인종과 종족에 따른 차이로 사료된다.

결론적으로 본 연구 결과에 의하면 A-844 G 다형성 중에 A 대립유전자나 G 대립유전자 분포에 따른 대조군과 신증후군사이나 대조군과 신증후군 중 frequent relapser군이나 infrequent relapser군 사이에도 통계적으로 유의한 상관관계가 나타나지 않았고 A/A형, G/A형, G/G형 모두 신증후군과 대조군 사이의 유의한 상관관계가 없었으나 신증후군 중 frequent relapser군에서만

A/A형이 통계적으로 유의한 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 이는 향후 PAI-1 유전자와 과응고성과 관련된 생화학적 검사와의 연관성에 대한 추가적인 조사와 특히, 신증후군의 과응고성과 신증후군 재발과의 연관성이 있는지에 관한 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

한 글 요약

목적 : 소아 신증후군 환자에서 과응고성 경향을 가지고 있으며 Plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1)은 강력하게 섬유소의 용해를 감소시키는 당단백으로 최근 몇몇 연구에 의하면 신증후군에서 증가된 PAI-1과 사구체내의 섬유소원이나 섬유소와 관련된 항체의 침착이 연관되어 있음을 시사하고 있다. 저자는 PAI-1 유전자 다형성 중에서 A-844 G 대립유전자 다형성의 빈도와 유전형을 소아의 신증후군에서 임상경과와의 연관성을 비교 평가하였다.

방법 : 2001년 10월부터 2003년 1월까지 경희대학교 부속병원 동서신장병연구소에 방문한 146명의 신증후군 환자와 249명의 대조군을 대상으로 하였고 신증후군 환자는 infrequent relapser(IR)와 frequent relapser(FR)로 다시 나누었다. 이들에 대해 PAI-1 promoter gene의 A-844 G에 대한 중합효소 연쇄반응-제한효소절편길이 다형현상(PCR-RFLP)을 이용하여 유전자형을 A/A, A/G, G/G로 분류하여 비교 분석하였다. 통계는 GraphPad Prism 통계분석 소프트웨어 version 2.0을 사용하였고 95% 신뢰구간과 P value는 0.05보다 작은 것을 의미 있게 보았다.

결과 : PAI-1 promoter gene의 A-844G 다형성의 분포는 대조군에서 G/G 81(32.5%), A/A 42(16.9%), G/A 126(50.6%)이었고 신증후군 그룹 중 IR 그룹은 G/G 29(34.1%), A/A 15(17.7%), G/A 41(48.2%)이었으며 FR 그룹에서는 G/G 17(27.9%), A/A 18(29.5%), G/A 26(42.6%)이었다. 단지 PAI-1 gene의 A-844G의 다형성

중 A/A 유전자형이 신증후군 환자 중 FR군에서만 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다(16.9% vs 29.5%, OR=2.06, P=0.0251). 반면 A/G 유전자형(OR=0.73, P=0.2639)이나 G/G 유전자형(OR=0.80, P=0.4828)은 통계학적인 의의가 없었고 IR군에서 대조군에 비하여 A/A(OR=1.06, P=0.8690), A/G(OR=0.91, P=0.7063), G/G(OR=1.07, P=0.7880)으로 모두 통계학적으로 유의하지 않았다.

결론 : A-844G AA 유전자형을 가진 신증후군 환자와 FR와 통계적인 상관관계가 있음을 알 수 있었다. 이는 향후 PAI-1 유전자와 과응고성과 관련된 생화학적 검사와의 연관성에 대한 추가적인 조사와 특히, 신증후군의 과응고성과 신증후군 재발과의 연관성이 있는지에 관한 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

참고 문헌

- 1) Citak A, Emre S, Sairin A, Bilge I, Nayir A. Hemostatic problems and thromboembolic complications in nephrotic children. *Pediatr Nephrol* 2000;14(2):138-42.
- 2) Schnaper HW. Antithrombin III, protein S, and coagulation in the nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001;16(1):98.
- 3) Zdrojewski Z, Raszeja-Specht A, Skibowska A, Owczarzak A, Rutkowski B. Hypercoagulation in patients with nephrotic syndrome. *Pol Merkuriusz Lek* 1997;2(9):201-4.
- 4) Takagawa K, Nakajima M, Taira K, Sakagami Y, Ueda T, Akazawa H, et al. Shear stress-induced platelet aggregation in children with minimal change nephrotic syndrome. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 2002;44(4):380-8.
- 5) Stiko A, Hervio L, Loskutoff DJ. Plasminogen activator inhibitors. In: Coleman RW, Hirsh J, Marder VJ, Clowes AW, George JN, eds. *Hemostasis and Thrombosis: Basic Principles and Clinical Practice*. 4th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; 2001:975-1002.

- 6) Kohler HP, Grant PJ. Mechanisms of disease: plasminogen-activator inhibitor type 1 and coronary artery disease. *New Engl J Med* 2000;342:1792-801.
- 7) Dawson SJ, Wiman B, Hamsten A, Green F, Humphries S, Hanney AM. The two allele sequences of a common polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 in HepG2 cells. *J Biol Chem* 1993;25:10739-45.
- 8) International Study of Kidney Disease in Children. The primary nephrotic syndrome in children. Identification of Patients with minimal change nephrotic syndrome from initial response to prednisone. *J Pediatr* 1981; 98:561-4.
- 9) Henry M, Chomiki N, Scarabin PY, Alessi MC, Peiretti F, Arveiler D, et al. Five frequent polymorphisms of the PAI-1 gene: Lack of association between genotypes, PAI activity, and triglyceride levels in a healthy population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:851-8.
- 10) Ginsburg D, Zeheb R, Yang AY, Rafferty UM, Andreasen PA, Nielsen L, et al. cDNA cloning of human plasminogen activator-inhibitor from endothelial cells. *J Clin Invest* 1986;78:1673-80.
- 11) Ny T, Sawdey M, Lawrence D, Millan JL, Loskutoff DJ. Cloning and sequence of a cDNA coding for the human α -migrating endothelial-cell-type plasminogen activator inhibitor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83: 6776-80.
- 12) Pannekoek H, Veerman H, Lambers H, Diegarde P, Verweij CL, Van Zonneveld AJ, et al. Endothelial plasminogen activator inhibitor(PAI): a new member of the Serpin gene family. *EMBO J* 1986;5:2539-44.
- 13) Kitching AR, Carmeliet P, Holdsworth SR, Tipping PG. Glomerulonephritis in mice with genetic deficiencies of the plasminogen/plasmin system. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:1738/A(abstr).
- 14) Kitching AR, Holdsworth SR, Ploplis VA, Plow EF, Collen D, Carmeliet P, et al. Plasminogen and plasminogen activators protect against renal injury in crescentic glomerulonephritis. *J Exp Med* 1997;185:963-8.
- 15) Chow KM, Szeto CC, Szeto Cy, Poon P, Lai FM, Li PK. Plasminogen activator inhibitor-1 polymorphism is associated with progressive renal dysfunction after acute rejection in renal transplant recipients. *Transplantation* 2002;74:1791-4.
- 16) Lahlou A, Peraldi MN, Thervet E, Flahault A, Delarue F, Soubrier F, et al. Chronic graft dysfunction in renal transplant patients: potential role of plasminogen activator inhibitor type 1. *Transplantation* 2002; 73:1290-5.
- 17) Rerolle JP, Hertig A, Nguyen G, Sraer JD, Rondeau EP. Plasminogen activator inhibitor type 1 is a potential target in renal fibrogenesis. *Kidney Int* 2000;58:1841-50.
- 18) Eddy AA. Plasminogen activator inhibitor-1 and the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002;283:209-20.
- 19) Malliaros J, Holdsworth SR, Wojta J, Erlich J, Tipping PG. Glomerular fibrinolytic activity in anti-GBM glomerulonephritis in rabbits. *Kidney Int* 1993;44:557-64.
- 20) Feng L, Tang WW, Loskutoff DJ, Wilson CB. Dysfunction of glomerular fibrinolysis in experimental angiotensin II basement membrane antibody glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1993;3:1753-64.
- 21) Bang CO, Park HK, Ahn MY, Shin HK, Hwang KY, Hong SY. 4G/5G polymorphism of the plasminogen activator inhibitor-1 gene and insertion/deletion polymorphism of the tissue-type plasminogen activator gene in atherothrombotic stroke. *Cerebrovasc Dis* 2001;11(4):294-9.
- 22) Endler G, Lalouschek W, Exner M, Mitterbauer G, Haring D, Mannhalter C. The 4G/4G genotype at nucleotide position -675 in the promoter region of the plasminogen activator inhibitor 1(PAI-1) gene is less frequent in young patients with minor stroke than in controls. *Br J Haematol* 2000;110(2):469-71.
- 23) Roest M, van der Schouw YT, Banga JD, Tempelman MJ, de Groot PG, Sixma JJ, et

- al. Plasminogen activator inhibitor 4G polymorphism is associated with decreased risk of cerebrovascular mortality in older women. *Circulation* 2000;101(1):67-70.
- 24) Hindorff LA, Schwartz SM, Siscovick DS, Psaty BM, Longstreth WT Jr, Reiner AP. The association of PAI-1 promoter 4G/5G insertion/deletion polymorphism with myocardial infarction and stroke in young women. *J Cardiovasc Risk* 2002;9(2):131-7.
- 25) Eriksson P, Kallin B, vanit Hoofst FM, Bavenholm P, Hamsten A. Allele-specific increase in basal transcription of the plasminogen-activator inhibitor 1 gene is associated with myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:1851-5.
- 26) Hamsten A, de Faire U, Walldius G, Dahlen G, Szamosi A, Landou C, et al. Plasminogen activator inhibitor in plasma: Risk factor for recurrent myocardial infarction. *Lancet* 1987;2:3-9.
- 27) Guan L, Ji X, Wang J, Zhang A, Zhang Y, Zhao L. Association of plasminogen activator inhibitor-1 gene 4G/5G polymorphism and coronary heart disease in Chinese patients. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2002;19:393-6.
- 28) Grubic N, Stegnar M, Peternel P, Kaider A, Binder BR. A novel G. A and the 4G/5G polymorphism within the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1(PAI-1) gene in patients with deep vein thrombosis. *Thromb Res* 1996;84:431-43.
- 29) Morange PE, Henry M, Tregouet D, Granel B, Aillaud MF, Alessi MC, et al. The A-844G polymorphism in the PAI-1 gene is associated with a higher risk of venous thrombosis in factor V Leiden carriers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20(5):1387-91.
- 30) Haselbauer A, Haberbosch W, Tillmanns H, Gardemann A. The impact of the PAI-1 A((-844))G promoter polymorphism on the risk and extent of coronary heart disease. *Thromb Haemost* 2002;88:697-8.